Iranian Journal of Animal Science Research
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

Research Paper
Vol. 14, No. 1, Spring 2022, p. 1-12

The Effects of Different Biological Additives on Chemical Composition and Fermentation Characteristics of Corn Silage

Akbar Taghizadeh[1]*, Elnaz Moradi[2], Hamid Mohammadzadeh[3], Maghsoud Besharati[4]

Received: 31-03-2020 Revised: 01-05-2020 Accepted: 05-05-2021 Available Online: 07-06-2022	**How to cite this article:** Taghizadeh, A., E. Moradi, H. Mohammadzadeh and M. Besharati. 2022. The Effects of Different Biological Additives on Fermentation and Chemical Composition of Corn Silage Iranian Journal of Animal Science Research 14(1):1-12. DOI:10.22067/ijasr.2021. 38281.0

Introduction: Dried forage has long been used as a traditional method of storage of forage feedstuffs. However, the need to postpone forage harvest until maturity in order to obtain more dry matter reduces its digestibility. Adverse weather conditions can lead to loss of nutrients and overall decline in the nutritional value of dried fodder. One of the methods that is somewhat less dependent on climate conditions and used by ranchers to maintain plants. The product of fermentation under anoxic and acidic conditions is called silage. During forage ensiling due to the activity of lactic acid producing bacteria and in anaerobic conditions, water soluble carbohydrates in forage are converted to predominantly lactic acid acids, which reduce the pH and protect the forage against microbial spoilage. Corn as a plant with high production capacity and adaptability in most parts of the country can play an important role in providing forage to livestock, especially in winter. One of the main concerns in the preparation of a good silage is the rapid decrease in silage pH in the shortest time. Hay pH at harvest time is between 6 and 7 and after the incubation period with proper fermentation, pH can be equal to or less than 4, which this reduction in pH is due to production of lactic acid and other organic acids by bacteria. Accelerate the reduction of pH by adding lactic acid bacteria in food is very important to minimize depreciation. Recent studies have shown that inoculation with *Lactobacillus buchneriinhibits* yeast growth and reduces the susceptibility to aerobic spoilage of various ensiled forages. This study was conducted to determine the effect of EM (containing yeast an lactobacillus) and Lalsil containing *lactobacillus buchneri* inoculants on chemical composition, fermentation profile and degradability of corn silage.

Materials and Methods: This research were carried out to investigate the Effects of Different Biological Additives on Fermentation and Chemical composition of corn silage by using 2 experiments (Chemical composition assay, gas production) in a completely randomized design. The latest experiment was performed in a completely randomized design with 4 different treatments in three replications. The corn forage was harvested at the dough stage and then crushed by a chopper. The silage were kept at room temperature for 90 days. Dry matter, organic matter, crude protein, insoluble fiber in acidic and neutral detergent, lactic acid content, water soluble carbohydrate, ammonia nitrogen concentration and total volatile fatty acids, pH were measured with 3 replicates. The four various treatments in the running order incorporated as: 1. control (without any inoculant), 2. Corn silage treated with bacterial additive Lalsil 1.8×10^{6} CFU/g fresh forage (include *lactobacillus buchneri*), 3. Corn silage treated with bacterial additive at 0.02 percent, and 4. Corn silage treated with bacterial additive at 0.04 percent (at fresh weight). Crops were ensiled in triplicate laboratory mini soils for 90 days at room temperature. The results were analyze using SAS (2002) software with GLM procedure and using of Duncan's test for comparing the averages (at 5% level).

Results and Discussion: The results showed that the additive of the different Biological Additives used had

1- Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
2- MSc of Animal Nutrition, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz,Tabriz, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
4- Assistant Professor, Department of Animal Science, Ahar Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
*Corresponding Author Email: ataghius@yahoo.com

the potential to positively change the chemical composition of corn silage. Treating corn silage with Lalsil and EM caused a significant decline in pH in comparison to control treatment (P<0.001). Supplementation of additives significantly increased dry matter content of corn silage (P <0.05). Statistical analysis of data from this experiment on corn silage pH showed that addition of Lalisil and EM significantly decreased corn silage pH (P <0.05). Also, the addition of EM to corn silage in 0.02 percent of supplementation had no significant difference with a control treatment. The EM treatments caused a significant decline in lactobacillus population in relation to Lalsil treatments (P<0.05). Experimental treatments in relation to control and the other treatments. Addition of Lalsil and EM to corn silage had no significant effect on neutral detergent fiber (NDF). Treating corn silage with Lalsil and EM caused a significant decline in pH in relation to control treatment (P<0.05). The lowest pH is related to inoculated bacterial treatment. Addition of Lalsil and EM had no significant effect on insoluble fiber in neutral detergent and acid detergent fiber. Lalsil additive reduced the amount of crude protein in the silage. The EM treatments caused a significant decline in lactobacillus population in relation to Lalsil treatments (P<0.05). DM disappearance was lower in EM treatments in at any level of supplementation in the early hours of incubation in relation to control treatment (P<0.05) as well as adding of Lalsil significantly reduced the DM disappearance (P<0.05).

Conclusion: Adding different biological additives to corn silage reduces pH and can improve the aerobic stability, quality of corn silage in laboratory silos by altering the availability of water soluble carbohydrates.

Keyword: Biological additives, Chemical composition, Corn silage, Effective microorganisms, Fermentation, Lalsil

نشریه پژوهشهای علوم دامی ایران
Homepage: http://ijasr.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاژ ذرت

اکبر تقی‌زاده*[1]، الناز مرادی[2]، حمید محمدزاده[3]، مقصود بشارتی[4]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۲
تاریخ بازنگری: ۱۳۹۹/۰۲/۱۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۵

تقی زاده، ا.، ا. مرادی، ح. محمدزاده و م. بشارتی. ۱۴۰۱. تاثیر استفاده از افزودنی‌های مختلف بیولوژیکی بر ترکیب شیمیایی و خصوصیات تخمیری سیلاژ ذرت. پژوهشهای علوم دامی ایران ۱۴(۱):۱۲-۱.

چکیده

متخصصین تغذیه نشخوارکنندگان، به دنبال استفاده از ترکیباتی هستند که با تغییر جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم های شکمبه، بازده استفاده از انرژی و پروتئین خوراک را افزایش دهند. هدف از پژوهش حاضر بررسی تاثیر استفاده از دو محصول تجاری حاوی افزودنی‌های میکروبی لالسیل و افزودنی بیولوژیکی EM بر ترکیب شیمیایی، پروفایل تخمیری و میزان تولید گاز سیلاژ ذرت بود. این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تیمارها شامل ۱. تیمار شاهد بدون افزودنی میکروبی، ۲. سیلاژذرت + افزودنی لالسیل به میزان $۱/۸\times۱۰^{۶}$ CFU به ازای هر گرم علوفه تازه، ۳. سیلاژ ذرت + ۰/۰۲ درصد EM و ۴. سیلاژ ذرت + ۰/۰۴ درصد EM (EMH) بود. مکمل کردن لالسیل و EM به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر pH سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد داشت، به طوری‌که کمترین pH مربوط به گروهی بود که افزودنی لالسیل اضافه شده بود. افزودن لالسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده‌ی خنثی نداشت. بیشترین مقدار گاز تولیدی مربوط به تیمارهای EMH و لالسیل بود. افزودنی EM در سطح ۰/۰۴ درصد و افزودنی لالسیل هر دو موجب افزایش تولید گاز سیلاژ ذرت شدند. ولی افزودنی EM در سطح ۰/۰۲ درصد تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت. افزودن لالسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده‌های خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت.

واژه‌های کلیدی: افزدونی‌های میکروبی، ترکیب شیمیایی، سیلاژ ذرت، لالسیل، میکروارگانیسم‌های موثر.

مقدمه

مدیریت بهینه سیلاژ ذرت سبب بهبود کیفیت سیلو، اتلاف کمتر مواد مغذی و عملکرد بهتر حیوانات شده و از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است. علوفه ذرت سیلو شده با تامین بخشی از انرژی، الیاف موثر فیزیکی و الیاف نامحلول در شوینده خنثی و شرکت در تشکیل تله فیبری شکمبه، بر تولید و ترکیبات شیر اثر گذار است (Besharati *et al.*, 2020a; Filya, 2003). برای بهبود کیفیت سیلاژ ذرت نیاز به مدیریت مناسب طی مراحل مختلف شامل ماده خشک مناسب هنگام برداشت، مقدار نشاسته، مقدار الیاف، قابلیت هضم الیاف، اندازه قطعات مناسب، فراوری دانه‌ها و تلقیح میکروبی و افزودنی‌ها، تراکم مناسب سیلو، پوشاندن سریع و مناسب، حفظ شرایط بی‌هوازی و مدیریت

۱- استاد گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۲- کارشناسی ارشد تغذیه دام، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۳- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۴- استادیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی اهر، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: ataghius@yahoo.com)

DOI: 10.22067/IJASR.2021.38281.0

برداشت از سیلو می‌باشد (Heinriches and Conrad, 1984). برخی از ارقام ذرت نشاسته (دانه‌ها) بیشتری تولید می‌کنند و قابلیت هضم الیاف آنها بالاتر است. ایجاد تراکم مناسب در سیلو سبب بهبود تخمیر، اتلاف کمتر ماده خشک، ذخیره مقدار بیشتر علوفه در ساختمان سیلو و فساد کمتر در سیلو می‌شود. پوشاندن مناسب، سیلو را طی زمان نگهداری و مصرف از فساد حفظ می‌کند، فساد و کپک‌زدگی سبب تولید آفلا توکسین‌ها و مایکوتوکسین‌ها در سیلو می‌شود که بر سلامت حیوان اثر منفی دارد و از طریق شیر و گوشت به انسان منتقل می‌شود (Kung and Ranjit, 2001). مدیریت مناسب برداشت علوفه، تهیه سیلو و اندازه قطعات مناسب علوفه سیلویی جهت تامین الیاف موثر فیزیکی، فعالیت جویدن، افزایش مصرف ماده خشک، کاهش انتخاب-گری، کاهش خطر اسیدوز و افزایش تولیدشیر دارای اهمیت ویژه است.

شرایط محیطی و تیمارها طی پرورش گیاه بر کیفیت علوفه موثر هستند. فراوری دانه با افزایش قابلیت هضم نشاسته و افزایش ماده خشک مصرفی، اثر مثبت بر تولید شیر دارد. تلقیح میکروبی مناسب می‌تواند بازیابی ماده خشک و انرژی سیلو را بهبود دهد (Mohammadzadeh *et al.*, 2012; Besharati *et al.*, 2019).

افزودنی‌های میکروبی مهمترین افزودنی‌های بیولوژیکی سیلو هستند. هدف از اضافه نمودن افزودنی‌های بیولوژیکی، غالب نمودن باکتری‌های مفید بر میکروارگانیسم‌های مضر می‌باشد. جمعیت باکتریایی مولد اسیدلاکتیک موجود بر روی گیاهان اغلب کم بوده و بعلاوه ممکن است باکتری‌های هترولاتیک بر باکتری‌های همولاتیک غالب باشند (Ranjit and Kung, 2000). باکتری‌های هترولاتیک اسید بوتیریک تولید کرده و اسیدآمینه را به فرآورده‌هایی با ارزش غذایی پایین تجزیه می‌کنند (Mahala and Khalifa, 2007). افزایش سطح اسید لاکتیک و کاهش قابل توجهی در pH در طول تخمیر سیلاژ ذرت، از فواید استفاده از افزودنی میکروبی است (Filya, 2003). در برخی موارد بهبود در عملکرد حیوانات تغذیه شده با سیلاژ تلقیح شده نیز مشاهده شده؛ به عنوان مثال، افزایش خوراک مصرفی، وزن زنده، بازده خوراک و تولید شیر در هنگام تلقیح میکروبی سیلاژ مشاهده شده است (Henderson and Gealser, 1970). میزان بهبود در کیفیت سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی کمتر از سیلاژ یونجه است. کم بودن این مقدار را می‌توان به تعداد زیاد باکتری‌های تولید کننده‌ی اسیدلاکتیک موجود بر روی علوفه ذرت و مقدار کربوهیدرات محلول بیشتر در زمان سیلو کردن نسبت داد. استفاده از افزودنی‌های میکروبی معایبی نیز دارد. علاوه بر هزینه بالای این افزودنی‌ها، افزودنی‌های باکتریایی حاوی باکتری‌های تولید کننده اسید لاکتیک همگن به اندازه کافی اسیدهای چرب فرار برای حفظ سیلاژ در مقابل کپک‌ها و مخمرهای هوازی تولید نکرده و لذا پایداری هوازی سیلاژ غلات (سیلاژهای گندم، ذرت و سورگوم) را کاهش می‌دهند (McDonald *et al.*, 1991). لاکتوباسیلوس‌های دارای تخمیر هترولاتیک می‌توانند در مراحل نهایی تخمیر (مرحله ذخیره سازی) از اسید لاکتیک تولید اسید استیک کرده و پایداری هوازی سیلاژ را هنگام باز شدن سیلو افزایش دهند (Mohammadzadeh *et al.*, 2012). هدف پژوهش حاضر بررسی تاثیر استفاده از افزودنی‌های میکروبی لالسیل با ترکیب باکتری لاکتوباسیلوس بوکنری و EM (حاوی باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) بر ترکیب شیمیایی، پروفایل تخمیری و میزان تولید گاز سیلاژ ذرت بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تیمار مختلف در سه تکرار اجرا گردید. ذرت علوفه‌ای در مرحله‌ی خمیری دانه برداشت و سپس توسط چاپر خرد شد. تیمارها شامل: ۱) علوفه ذرت سیلویی شاهد (بدون افزودنی میکروبی)، ۲) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با افزودنی باکتریایی با نام تجاری Lalsil Fresh (حاوی باکتری لاکتوباسیلوس بوکنری) به میزان $۱/۸×۱۰^{۶}$ CFU[1] به ازای هر گرم علوفه تازه، ۳) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با EM به میزان ۰/۰۲ درصد، ۴) علوفه ذرت سیلویی تلقیح شده با EM به میزان ۰/۰۴ درصد بودند. سیلوها به مدت ۹۰ روز در دمای اتاق نگهداری شدند.

پس از ۹۰ روز سیلوها باز شده و بعد از اندازه‌گیری pH در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد در فریزر برای انجام آزمایشات بعدی نگهداری شد. پس از خشک و آسیاب کردن، به منظور تعیین ماده خشک (DM) نمونه‌های سیلاژ ذرت بعد از خروج از فریزر در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت در آون خشک شده و با غربال ۱ میلی‌متر آسیاب شدند. از هر تیمار مقدار ۱ گرم در دمای ۵۵۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ ساعت سوزانده و مقدار خاکستر آن‌ها اندازه‌گیری شد. دیواره سلولی و دیواره سلولی بدون همی‌سلولز با روش ون سوست (Van Soest *et al.*, 1991) اندازه‌گیری شدند. برای اندازگیری pH، عصاره استخراج شده سیلاژ استفاده شد. برای این منظور سیلاژهای آزمایشی مقدار ۳۰ گرم از هر نمونه در داخل یک مخلوط‌کن ریخته و به میزان۲۷۰ سی‌سی آب مقطر به آن‌ها اضافه شد. مخلوط ایجاد شده از پارچهململ دو لایه، عبور داده شد (Mohammadzadeh *et al.*, 2012). جهت اندازگیری ازت آمونیاکی از روش برودریک و کنگ (۷) استفاده شد. اسید لاکتیک از طریق روش جوزفا و همکاران (Kalzendorf, 1992) اندازگیری شد.

برای بررسی کینتیک تخمیر از روش آزمایش تولید گاز استفاده شد. اندازه‌گیری گاز تولید شده مطابق با روش فدوراک و هرودی (Fedorak and Hurdy, 1983) صورت گرفت. در این روش ابتدا مواد خوراکی

1- Colony forming unit

توسط آسیاب با قطر منافذ الک ۲ میلی متری بصورت یکنواخت آسیاب شدند. مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از هر ماده خوراکی آسیاب شده با دقت توزین و به داخل شیشه‌های سرم استریل ۵۰ میلی‌لیتری منتقل گردید. برای هر نمونه ماده غذایی ۳ تکرار در نظر گرفته شد. مایع شکمبه مورد نیاز در آزمایش تولید گاز دو ساعت بعد از وعده خوراک صبحگاهی، از ۲ رأس گوسفند فیستولادار گرفته شد. این حیوانات به مدت یک ماه با جیره غذایی در سطح نگهداری شامل ۴۰ درصد کنسانتره و ۶۰ درصد علوفه و ترکیب جیره، شامل یونجه خشک، دانه جو و کنجاله سویا تغذیه شدند. مـایع شکمبه جمع‌آوری شده با پارچه توری چهار لایه صاف شد و در داخل فلاسک حاوی گاز دی‌اکسید کربن، سریعاً بـه آزمایشگاه منتقل شد. قبل از انتقال مایع شکمبه به داخل شیشه‌های سرم، با بافر تهیه شده به روش مکدوگال (McDougall, 1948) به نسبت ۱ به ۲ (یک قسمت مایع شکمبه و دو قسمت بافر) مخلوط شد. شیشه‌های سرم قبل از انتقال مایع شکمبه و بافر، جهت جلوگیری از شوک حرارتی، به مدت نیم ساعت در دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد گرم شد. در مرحله انتقال بافر و مـایع شکمبه از ارلن بـه شیشه‌های سرم، جریان مداوم گاز دی‌اکسید کربن بـه ارلن قرار گرفته بر روی هیتر ۳۹ درجه سانتیگراد تزریق شد. در هر شیشه حاوی تیمار آزمایش مقدار ۲۰ میلی-لیتر مخلوط مایع شکمبه و بافر افزوده شد و بعد از بی هوازی نمودن داخل شیشه با تزریق گاز دی‌اکسید کربن، درب شیشه‌ها توسط درپوش لاستیکی و پرس فلزی، محکم بسته شد. به منظور تصحیح گاز تولیدی با منشاء مایع شکمبه تعداد ۵ عدد شیشه بدون ماده غذایی و فقط دارای مـایع شکمبه در نظر گرفته شدند. کل شیشه‌ها جهت اندازه‌گیری گـاز تولیدی به داخل دستگاه انکوباتور شیکر با ۱۲۰ دور در دقیقه و دمای ۳۹ درجه سانتی‌گراد، منتقل شده و عمل قرائت و ثبت میزان گاز تولیدی ناشی از تخمیر مواد غذایی از روش فدوراک و هرودی (Fedorak and Hurdy, 1983) (جابجایی آب) در ساعات ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۶، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از عمل انکوباسیون انجام گرفت. و بر اساس حجم گاز تولیدی فراسنجه‌های تجزیه پذیری با روابط زیر محاسبه شدند:

$$Y = b\,(1 - e^{-ct})$$

که Y مقدار گاز تولید شـــده (میلی لیتر در زمان t)؛ b گاز تولید شده از بخش نامحلول اما آهسته قابل تخمیر؛ e عدد نپر؛ c ثابت نرخ تولید گاز (میلی لیتر در ساعت) و t زمان تخمیر می‌باشد. b و c با مدل نـمـایـی ارائـه شـــده تـوسـط اورسـکـوف و مـکـدونـالـد (Ørskov and McDonald, 1979) محاسبه شد.

آنالیز آماری داده‌های بدست آمده در قالب طرح کاملاً تصادفی توسط SAS با رویه GLM تجزیه و تحلیل شدند و آزمون دانکن برای مقایسه میانگین‌ها (در سطح ۰/۰۵ درصد) به کار برده شد. مدل آماری طرح به‌صورت زیر بود:

$$Y_{ij} = \mu + T_j + e_{ij}$$

Y_{ij} = مقدار هر مشاهده، μ = میانگین کل، T_j = اثر تیمار، e_{ij} = خطای آزمایشی.

نتایج و بحث

اثرات لالسیل و EM بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت (درصد از ماده خشک)

اثرات ماده افزودنی لالسیل و EM بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت در جدول ۱ آمده است. نتایج بدست آماده نشان داد مکمل کردن افزودنی‌ها، اثر معنی‌داری بر مقدار ماده خشک سیلاژ ذرت گذاشت ($P<0.01$) به طوری که افزودن لالسیل و EM در هر دو سطح میزان ماده خشک سیلاژ را افزایش داد و سطوح مختلف EM بیشترین درصد ماده خشک را به خود اختصاص داد ($P<0.01$). همچنین نتایج مربوط به افزودنی لالسیل نیز نشان از اثر معنی‌داری در مقایسه با گروه شاهد داشت ($P<0.05$). این نتایج موافق با نتایج علیخانی و همکاران (Alikhani et al., 2005) بود. محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh *et al.*, 2012) نیز با اضافه کردن افزودنی میکروبی *Lactisil Maize* تفاوت معنی‌داری در میزان ماده خشک سیلاژ ذرت مشاهده نکردند. در مطالعات ولفورد (Woolford, 1975) سیلاژهای تیمار شده با افزودنی حاوی اسید پروپیونیک و اسید فورمیک دارای ماده خشک بیشتری نسبت به گروه شاهد و سیلاژهای تیمار شده با افزودنی ملاس و ملاس+ اوره دارای ماده خشک کمتری نسبت به گروه شاهد بودند. به نظر می‌رسد علت افزایش در ماده خشک سیلاژ ذرت متاثر از افزودنی‌های لالسیل و EM، کاهش اتلاف ماده خشک توسط این افزودنی‌ها و افزایش ماده خشک نهایی سیلاژهای تلقیح شده باشد.

آنالیز آماری داده‌های حاصل از این آزمایش بر pH سیلاژ ذرت نشان داد؛ افزودن لالسیل و EM اثر معنی‌داری برpH سیلاژ ذرت داشت ($P<0.01$). مکمل کردن لالسیل و EM به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر pH سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد داشت. به‌طوری که کمترین pH مربوط به گروهی بود که افزودنی لالسیل اضافه شده بود ($P<0.01$) که این نتایج با نتایج هاشم‌زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari *et al.*, 2014) مطابقت و با نتایج محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh *et al.*, 2012) مطابقت نداشت. افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکنری نسبت به سایر افزودنی‌ها به میزان بیشتری سبب کاهش pH شد. در آزمایش هاشم زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari *et al.*, 2014)، افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکنری سبب کاهش pH شد. کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) در اثر اضافه کردن لاکتوباسیلوس بوکنری بر سیلاژ جو پس از یک دوره ۶۹ روزه کاهش pH را گزارش کردند. بشارتی و همکاران (Besharati *et al.*, 2020b, Besharati *et al.*,

2019)، ویتر و همکاران (Winters et al., 2000) و کورتیس و همکاران (Curtis, 1996) نتایج مشابهی را گزارش نمودند. فیلیا (Filya, 2003) نتایجی عکس این نتایج را گزارش نمودند. به طور کلی می‌توان دلیل کاهش pH را افزایش باکتری‌های تولید کننده اسیدلاکتیک توسط این افزودنی ها دانست. علت دیگر کاهش pH احتمالاً میزان بالای ماده خشک در سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی‌ها می‌باشد، که باعث کاهش بیشتر pH می‌شود .

در صورتی که کربوهیدرات‌های محلول در آب گیاه کافی باشد، اسیدهای تولید شده pH سیلاژ را به ۴ یا پایین تر می‌رسانند که در این حالت متناسب با ماده خشک گیاه از فعالیت‌های تخمیری بیشتر جلوگیری می‌شود و سیلاژ به صورت پایدار مانده و ترکیبات آن تغییر نمی‌کند (Coblentz and Muck, 2012). در نتیجه تولید این اسیدها و کاهش pH سیلاژ، رشد میکروارگانیسم‌های فاسد کننده سیلو متوقف می‌شود (Henderson and Gealser, 1970). فروال و همکاران (Frevel et al., 1985) بیان کردند که اسیدلاکتیک با افزایش غلظت H^+ سبب کاهش pH سیلاژ تا سطح غیر قابل تحملی برای باکتری‌های مضر می‌گردد. مک آلیستر و همکاران (McAllister et al., 1995) به این نتیجه رسیدند که اگر افزودنی‌های باکتریایی، سیلاژ را به طرف تخمیر همگن هدایت نماید سبب بالا رفتن مقدار کربوهیدرات غیرساختمانی سیلاژ می‌گردد. در تحقیقات علیخانی و همکاران (Alikhani et al., 2005) pH سیلاژ آفتابگردان حاوی ملاس نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و استفاده از افزودنی میکروبی باعث کاهش معنی‌داری در pH سیلاژ گردید. مقایسه بین تیمارهایی که با افزودنی-های لاکسیل و EM مکمل شده بودند، نسبت به یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشتند.

افزودن لاکسیل و EM تاثیر معنی‌داری بر الیاف نامحلول در شوینده ی خنثی و الیاف نامحلول در شوینده اسیدی نداشت. این نتایج با نتایج هاشم‌زاده و همکاران (Hashemzadeh-Cigari et al., 2014) مطابقت داشت. افزودن EM با دوز کم به علوفه ذرت سبب کاهش عددی اندکی در میزان الیاف نامحلول در شوینده خنثی و الیاف نامحلول در شوینده‌ی اسیدی گردید که این مقدار از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). احتمالاً این امر به دلیل مصرف قندهای محلول علوفه است که سبب افزایش در غلظت الیاف سیلاژ می گردد (Kalzendorf, 1992).

نتایج بدست آمده برای خاکستر سیلاژ ذرت نشان داد استفاده از افزودنی‌ها اثر معنی‌داری بین تیمارهای آزمایشی در مقایسه با گروه شاهد دارد ($P < ۰/۰۱$). بطوری که افزودن EM در هر دو مقدار به سیلاژ ذرت کاهش معنی‌داری بر خاکستر سیلاژ ذرت در مقایسه با گروه شاهد دارد. بیشترین خاکستر سیلاژ ذرت مربوط به گروهی بود، که لاکسیل اضافه شده بود. داده‌های مربوط به خاکستر سیلاژ ذرت ۷/۶۰، ۸/۳۴، ۶/۳۳ و ۶/۳۳ به‌ترتیب برای شاهد، لاکسیل، EML و EMH می‌باشد. در تحقیقات اوس و همکاران (Os et al., 1997) استفاده از افزودنی‌ها تفاوت معنی‌داری در میزان خاکستر سیلاژ تفاله چغندرقند ایجاد نکرد. در تحقیقات وینبرگ و ماک (Weinberg and Muck, 1996)، ویس (Weiss, 1992) نیز استفاده از افزودنی‌های میکروبی بر روی میزان خاکستر سیلاژ یونجه تفاوتی ایجاد نکرد. افزودنی ملاس باعث افزایش میزان خاکستر سیلاژ سورگوم می‌شود (Honig and Woolford, 1980). محمدزاده و همکاران (Mohammadzadeh et al., 2012) عنوان کردند که سیلاژهای دارای افزودنی میکروبی میزان بالاتری از خاکستر خام را داشتند.

افزودنی لاکسیل باعث کاهش میزان پروتئین خام سیلاژ شد که با یافته‌های سایر محققین مطابقت دارد (Rowghani et al., 2008). نتایج این آزمایش با نتایج کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) و کالزندوفر (Kalzendorf, 1992) که هر دوی این مطالعات افزودنی باکتریایی را بی‌تاثیر بر میزان پروتئین خام گزارش نمودند، مطابقت داشت. بیشترین میزان پروتئین خام مربوط به تیمار شاهد بود، افزودن EM در هر دو مقدار، کاهش معنی‌داری در میزان پروتئین خام ایجاده کرد. لشکری و همکاران (Lashkari et al., 2014)، نیز گزارش کردند که استفاده از افزودنی با منبع کربوهیدراتی مانند تفاله مرکبات، باعث افزایش در میزان پروتئین خام گردید.

اثرات افزودنی لاکسیل و EM بر پروفایل تخمیری سیلاژ ذرت

کربوهیدرات محلول سیلاژهای تلقیح شده با افزودنی لاکسیل و EM در دوز پایین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد نداشت، ولی استفاده از افزودنی EM در دوز بالا باعث افزایش معنی‌دار کربوهیدرات محلول در این سیلاژها گردید ($P < ۰/۰۵$). دریهیوس و همکاران (Driehuis et al., 1996) که اثر افزودنی باکتریایی بوکنری را به تنهایی و به همراه باکتری‌های تخمیرکننده همگن در سطوح مختلف در یک دوره ۹۰ روزه سیلویی بر روی علوفه چاودار چند ساله مورد آزمایش قرار دادند، کاهش در میزان کربوهیدرات محلول در تیمار لاکتوباسیلوس بوکنری را نسبت به تیمار شاهد گزارش نمودند. در آزمایش هاشم‌زاده و همکاران (McDonald et al., 1991) نیز استفاده از یک منبع کربوهیدراتی دیگر مانند ملاس سبب افزایش کربوهیدرات محلول نسبت به تیمار شاهد گردید. رنجت و کانگ (Ranjit and Kung, 2000) که تاثیر افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکنری را در سطوح مختلف بر روی سیلاژ ذرت مورد بررسی قرار دادند، نیز کاهش در میزان کربوهیدرات محلول را در سطح بالاتر افزودنی بوکنری تا نصف تیمار شاهد گزارش نمودند، اما در سطوح پایین‌تر لاکتوباسیلوس بوکنری تغییرات معنی‌داری مشاهده نکردند. نتایج این

آزمایش با نتایج آزمایشات کانگ و رنجیت (Kung and Ranjit, 2001) و بسیاری از آزمایشات دیگر که اثرات افزودنی باکتریایی لاکتوباسیلوس بوکنری را بر روی سیلاژ علوفه‌های متفاوت مورد بررسی قرار دادند، مطابقت داشت.

با توجه به جدول ۲ ازت آمونیاکی (درصد از کل نیتروژن) در بین نمونه شاهد از نظر آماری با نمونه‌های لالسیل و EM اختلاف مشاهده گردید (P =۰/۰۰۱). اما بین نمونه نمونه‌های لالسیل و EM اختلاف مشاهده نگردید. غلظت نیتروژن آمونیاکی سیلاژهای ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی لاکتوباسیلوس بوکنری و EM کمتر از سیلاژ شاهد بود. افت سریع pH در مراحل اولیه سیلو کردن در سیلاژهای تلقیح شده با این افزودنی‌ها به دلیل تعداد بیشتر باکتری‌های اسید لاکتیک همولاکتیک موجود در آن، می‌تواند جلوی فعالیت پروتئازی آنزیم‌های گیاهی و باکتری‌ها را بگیرد (McDonald *et al*., 1991; Yang *et al*., 2010 Behgar *et al*., 2011). ولانیس و همکاران (Volanis *et al*., 2004) تفاوتی بین سیلاژ دارای افزودنی میکروبی و شاهد در محتوای ازت آمونیاکی مشاهده نکردند. با این حال در این تحقیق تیمار لالسیل نسبت به تیمار شاهد از نظر آماری معنی‌دار بود. فیلیا (Filya, 2003)، دریهیوس و همکاران (Driehuis *et al*., 1996) نشان دادند که، سطح نیتروژن آمونیاکی در سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی میکروبی حاوی لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس بوکنری پایین‌تر از گروه تلقیح شده و یا تلقیح شده فقط با لاکتوباسیلوس پلانتاروم بود.

جدول ۱– اثرات لالسیل و EM[1] بر ترکیب شیمیایی سیلاژ ذرت (درصد از ماده خشک)

Table 1- Effect of Lalsil and EM on Chemical Properties of corn silage (DM %)

Treatments[1] تیمارها[1]	ماده خشک DM	الیاف نامحلول در شوینده خنثی NDF	الیاف نامحلول در شوینده اسیدی ADF	خاکسترخام CA	پروتئین خام CP	pH
	ترکیبات شیمیایی[2] Chemical composition[2]					
شاهد Control	18.90[b]	43.3	20.86	7.60[a]	8.82[a]	4.05[a]
لالسیل Lalsil	20.61[a]	46.73	22.06	8.34[a]	8.68[ab]	3.87[c]
افزودنی باکتریایی۰/۰۲ EML	21.04[a]	42.06	20.20	6.33[b]	8.02[b]	3.96[b]
افزودنی باکتریایی۰/۰۴ EMH	21.33[a]	46.73	22.06	6.33[b]	8.21[b]	3.88[c]
میانگین معیار اشتباه SEM	0.35	2.01	0.91	0.46	0.216	0.018
سطح معنی داری p-value	0.0001	0.05	0.089	0.0016	0.0059	<.0001

[1] تیمارها – Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

[2] ترکیب شیمیائی: DM، ماده خشک؛ CP، پروتئین خام؛ CA، خاکستر خام؛ NDF، فیبر نامحلول در شوینده خنثی؛ ADF، فیبر نامحلول در شوینده اسیدی

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

[1]Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH :corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

[2]Chemical composition: DM, dry matter; CP, crude protein; CA, crude ash; NDF, neutral detergent fiber; ADF, acid detergent fiber;

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

اثر افزودنی‌ها بر تولید گاز

نتایج حاصل از اثر افزودنی‌های بیولوژیکی در سیلاژ ذرت بر تولید گاز در زمان‌های مختلف در جدول ۳ نشان داده شده است. آنالیز آماری داده‌ها نشان داد که افزودن EM به میزان ۰/۰۲ درصد به سیلاژ ذرت تفاوتی با تیمار شاهد ایجاد نکرد. اما وقتی از مقدار ۰/۰۴ درصد EM استفاده شد تولید گاز نسبت به تیمار شاهد، شدیدا افزایش معنی‌دار یافت

(P <۰/۰۰۱). افزودنی لالسیل موجب افزایش تولید گاز نسبت به تیمار شاهد در تمام ساعات گردید (P <۰/۰۱). میزان تولید گاز در تیمار لالسیل از تیمار ۰/۰۲ درصد EM و تیمار شاهد بیشتر بوده ولی از تیمار ۰/۰۴ درصد EM پایین‌تر بود (P <۰/۰۰۱). نتایج کلی نشان می‌دهد افزودنی EM در سطح ۰/۰۴ درصد و افزودنی لالسیل، موجب افزایش تولید گاز سیلاژ ذرت شدند که این امر می‌تواند موجب افزایش انرژی قابل متابولیسم سیلاژهای حاصله گردد. پتانسیل تولید گاز سیلاژهای تلقیح شده با لالسیل و EM در دوز بالا نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری پیدا کرد. در این سیلاژها به علت اسیدی‌تر بودن محیط الیاف شکننده‌تر هستند و محل اتصال باکتری‌های تجزیه کننده به علوفه بیشتر می‌شود و در نتیجه تجزیه‌پذیری نسبی افزایش می‌یابد و تولید گاز بیشتر می‌شود. بهگر و همکاران (Behgar *et al.*, 2011) در تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که میزان گاز تولیدی در سیلاژ عمل‌آوری با مایع شکمبه در زمان ۲، ۴، ۱۶ و ۲۴ به طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد بود. از آنجایی که همبستگی منفی بین دیواره سلولی گیاه و میزان گاز تولیدی وجود دارد (Behgar *et al.*, 2011) لذا چون سیلاژ عمل آوری شده با مایع شکمبه حاوی میزان بیشتری NDF نسبت به سیلاژ شاهد بود، تولید گاز کمتری نسبت به تیمار شاهد داشت. این نتایج با یافته‌های ما همخوانی نداشت. ساریچیچک و کیلیک (Sariçiçek and KIlic, 2009) که از اسیدفرمیک و اوره برای عمل آوری سیلاژ ذرت استفاده کردند به این نتیجه رسیدند که این افزودنی‌ها باعث کاهش میزان گاز تولیدی نسبت به گروه شاهد می‌شود، که ناشی از محتوای بیشتر کربوهیدرات محلول سیلاژ است زیرا در محیط شکمبه، با افزایش بخش‌های سریع تخمیر سیلاژ میزان گاز تولیدی در نتیجه تولید میزان بیشتر پروپیونات، کاهش می‌یابد، زیرا این مسیر اتلاف انرژی کمتری نسبت به مسیر استات دارد (Sariçiçek and KIlic, 2009).

جدول ۲- اثرات متقابل افزودنی باکتریایی و EM[1] بر پروفایل تخمیری سیلاژ ذرت

Table 2- Effects of additives bacterial and EM on corn silage fermentation profile

Treatments[1] تیمارها[1]	NH_3-N[2]	WSC[3]
شاهد Control	8.01[a]	1.63[bc]
لالسیل Lalsil	6.20[b]	1.49[c]
افزودنی باکتریایی۰/۰۲ EML	7.06[b]	2.21[b]
افزودنی باکتریایی۰/۰۴ EMH	6.5[b]	4.54[a]
اشتباه معیار میانگین SEM	0.343	0.231
سطح معنی داری p-value	0.001	<.0001

۱ تیمارها – Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

۲ NH3-N، نیتروژن آمونیاکی؛ WSC، کربوهیدرات محلول در آب

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

[1]Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH :corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)

[2]NH3-N: ammonium nitrogen, [3]WSC: water soluble carbohydrate.

Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

جدول ۳- میزان تولید گاز در زمان‌های مختلف در سیلاژ ذرت تحت تاثیر افزودنی‌های میکروبی مختلف

Table 3- Gas production at different times (Ml per 300 Mg of dry matter) in corn silage under the influence of various microbial additives

Treatments[1] تیمارها[۱]	زمان انکوباسیون (ساعت) Incubation times (h)										
	2	4	6	8	12	16	24	36	48	72	96
شاهد Control	5.88[ab]	12.08[c]	16.96[bc]	22.22[c]	26.56[c]	29.48[c]	32.16[c]	34.06[c]	34.92[c]	35.66[c]	36.36[c]
لالسیل Lalsil	7.04[a]	15.64[ab]	24.14[ab]	30.74[b]	36.70[b]	42.34[b]	47.88[ab]	56.10[ab]	56.66[a]	57.34[ab]	58.28[ab]
افزودنی باکتریایی۰/۰۲ EML	3.30[b]	8.82[c]	13.96[c]	19.40[c]	25.00[c]	30.52[c]	35.24[c]	37.60[c]	38.58[c]	39.32[c]	40.00[c]
افزودنی باکتریایی۰/۰۴ EMH	7.94[a]	17.44[a]	27.10[a]	35.64[a]	42.90[a]	48.30[a]	52.96[a]	56.72[a]	58.54[a]	59.86[a]	60.86[a]
معیار اشتباه میانگین SEM	1.16	1.85	2.31	2.54	2.59	2.66	2.92	2.83	2.85	2.88	2/87
سطح معنی داری p-value	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001

۱ تیمارها – Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

[1]Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH :corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)
Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).

محاسبات تجزیه پذیری سیلاژ ذرت با افزودن لالسیل و EM در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان داد که بخش قابل تجزیه در تیمار ۲ و ۴ بالاتر بود (*P* = ۰/۰۰۰۱). افزودن لالسیل و EM در سطح ۰/۰۴ تولید گاز بخش نامحلول قابل تجزیه را افزایش داد. ساریچیچک و کیلیک (Sariçiçek and KIlic, 2009) به نتایج مشابهی دست یافتند، به طوری‌که آنان دریافتند افزودن سطوح مختلف اسید بر سیلاژ ذرت سبب کاهش نرخ تخمیر شده است. ساریچیچک و کیلیک (Sariçiçek and KIlic, 2009) گزارش کردند که سطوح اسید فرمیک مصرفی و مرحله برداشت عوامل اثرگذار بر ثابت نرخ تجزیه سیلاژ ذرت می‌باشد. علت احتمالی افزایش بخش c سیلاژ حاوی اسید فرمیک، اثر این اسید بر دیواره سلولی به خصوص همی‌سلولز است که باعث افزایش تجزیه آن و در نتیجه افزایش میزان ثابت نرخ تجزیه‌پذیری سیلاژ شده است. با کاهش ضریب تجزیه‌پذیری میزان گاز تولیدی کاهش می‌یابد (Sariçiçek and KIlic, 2009). در آزمایشی نشان دادند که تیمار لالسیل سرعت تجزیه‌پذیری کمتری برای ماده خشک نسبت به تیمار شاهد داشت. افزودن لالسیل منجر به افزایش بخش با تجزیه کند و کل بخش با پتانسیل تجزیه سیلاژ ذرت شد که این امر می تواند به ایجاد محیط اسیدی‌تر توسط لاکتوباسیلوس بوکنری و هیدرولیز اسیدی همی سلولز برگردد (McDonald *et al.*, 1991).

جدول ٤– فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری (تولید گاز) سیلاژ ذرت تحت تأثیر افزودنی باکتریایی و EM[1]

Table 4– Degradability parameters (gas production) of corn silage under the influence of bacterial additives and EM

Treatments[1] تیمارها[۱]	فراسنجه‌های تجزیه‌پذیری Degradability parameters	
	b	**c**
شاهد Control	117.44[b]	0.12[a]
لالسیل Lalsil	188.71[a]	0.08[b]
افزودنی باکتریایی۰/۰۲ EML	131.36[b]	0.09[b]
افزودنی باکتریایی۰/۰۴ EMH	196.53[a]	0.11[a]
میانگین معیار اشتباه SEM	2.85	0.009
سطح معنی داری p-value	0.0001	0.0002

۱ تیمارها – Control: کنترل، Lalsil: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی Lalsil fresh (شامل لاکتوباسیلوس پلانتاروم)، EML: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM (شامل باکتری‌های اسید لاکتیک و مخمر) در سطح ۰/۰۲ درصد (بر اساس علوفه تازه)، EMH: سیلاژ ذرت تلقیح شده با افزودنی باکتریائی EM در سطح ۰/۰۴ درصد (بر اساس علوفه تازه)

در هر ستون میانگین‌های با حروف لاتین متفاوت، در سطح ۰/۰۵ درصد معنی‌دار هستند.

b گاز تولید شده از بخش غیر محلول ولی با قابلیت تخمیر متوسط (میلی‌لیتر بر گرم ماده خشک)

c نرخ تولید گاز (میلی‌لیتر بر ساعت)

[1]Treatments-Control: control (without any inoculant), Lalsil: corn silage treated with bacterial additive Lalsil fresh (include lactobacillus buchneri), EML: corn silage treated with bacterial EM (EM contains lactic acid bacteria and yeast) additive at 0.02 percent, EMH: corn silage treated with bacterial EM additive at 0.04 percent (at fresh forage)
Means within same column with different superscripts differ (P<0.05).
b is gas produced by insoluble but slowly fermentation fraction (ml/DM)
c is constant gas production rate (ml/h).

Refrences

1- Alikhani, M., A. A. Alamooti, G. R. Ghorbani, and N. Sadeghi. 2005. Effect of urea, molasses and a bacterial inoculants on chemical composition and dry matter degradability of sunflower silage. Journal of Water and Soil Science, 9(3): 171-183. https://doi.org/20.1001.1.24763594.1384.9.3.14.6
2- Abdulrazaka, S. A., T. Fujiharaa, J. k. Ondiekb, and E. R. Ørskovc. 2000. Nutritive evaluation of some Acacia tree leaves from Kenya. Animal Feed Science and TechnolOgy, 85 (1–2): 89–98. https://doi.org/10.1016/S0377-8401(00)00133-4
3- Behgar, M., S. Ghasemi, A. Naserian, A. Borzoie, and H. Fatollahi. 2011. Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and in vitro digestion of pistachio (Pistachia vera) hull. Radiation Physics and Chemistry, 80(9): 963-967. https://doi.org/10.1016/j.radphyschem.2011.04.016
4- Besharati, M., V. Palangi, M. Niazifar, and Z. Nemati. 2020a. Comparison study of flaxseed, cinnamon and lemon seed essential oils additives on quality and fermentation characteristics of lucerne silage. Acta agriculturae Slovenica, 115(2): 455-462. http://dx.doi.org/10.14720/aas.2020.115.2.1483
5- Besharati, M., M. Karımi, A. Taghizadeh, Z. Nemati, and A. Kaygisiz. 2020b. Improve quality of alfalfa silage ensiled with orange pulp and bacterial additive. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi, 23(6), 1669-1677.
6- Besharati, M., N. Shafipour, and Z. Nemati. 2019. Effect of supplementation of alfalfa silage with lactobacillus buchneri additive, orange pulp and molasses on dry matter, crude protein and organic matter degradability by nylon bags. Research on Animal Production, 10(23): 45–52. http://dx.doi.org/10.29252/rap.10.23.45
7- Broderick, G. A., and J. H. Kang. 1980. Automated simultaneous determination of ammonia and total amino acids in ruminal fluid and in vitro media. Journal of Dairy Science, 63: 64–75. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(80)82888-8
8- Coblentz, W. K., and R. E. Muck. 2012. Effects of natural and simulated rainfall on indicators of ensilability and

nutritive value for wilting alfalfa forages sampled before preservation as silage. Journal of Dairy Science, 95(11):6635-6653. https://doi.org/10.3168/jds.2012-5672

9- Curtis, J. L. 1996. Effect of variety on the forage yield, ensiling characteristics, and nutritive value of alfalfa, and effects of cutting, stage of maturity, and silage additives on the preservation and nutritive value of alfalfa silage. Kansas State University.

10- Driehuis, F., and P. G. van Wikselaar. 1996. Effects of addition of formic, acetic or propionic acid to maize silage and low dry matter grass silage on the microbial flora and aerobic stability. p. 256-257. In: D.I.H. Jones, R. Jones, R. Dewhurst, R. Merry, and P.M. - Haigh (ed.) Proc. 11th Int. Silage Conference, Aberystwyth, UK. 8-11 September 1996. IGER, Aberystwyth, UK.

11- Fedorak, P. M. and D. E. Hurdy. 1983. A simple apparatus for measuring gas production by methanogenic cultures in serum bottles. Environmental Technology, 4: 425-432. https://doi.org/10.1080/09593338309384228

12- Filya, I. 2003. The effect of Lactobacillus buchneri and Lactobacillus plantarum on the fermentation, aerobic stability, and ruminal degradability of low dry matter corn and sorghum silages. Journal of Dairy Science, 86: 3575-3581. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73963-0

13- Frevel, H. J., G. Engel, and M. Teuber. 1985. Schimmelpilze in Silage und Rohmilch. Milchwissenschaft 40,129-132.

14- Hashemzadeh-Cigari, F., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, E. Ghasemi, A. Taghizadeh, S. Kargar, and W. Z. Yang 2014. Interactive effects of molasses by homofermentative and heterofermentative inoculants on fermentation quality, nitrogen fractionation, nutritive value and aerobic stability of wilted alfalfa (Medicago sativa L) silage. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 98: 290–299. https://doi.org/10.1111/jpn.12079

15- Heinriches, A. J., and H. R. Cconrad. 1984. Fermentatian characteristics and feeding value of ammonia-treated corn silage. Journal of Dairy Science, 67: 82-87. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81269-2

16- Henderson, H. E. and M. R. Gealser. 1970. Amino acid, Mineral additives to corn silage. Journal of Animal Science, 31:234-249.

17- Huchet, V., D. Thuault, and C. M. Bourgeois. 1995. Modélisation des effets du pH, de l'acide lactique, du glycérol et du NaCl sur la croisance des cellules végétatives de Clostridium tyrobutyricum en milieu de culture. Lait, 75: 585-593. https://doi.org/10.1051/lait:1995645

18- Honig, H., and M. K. Woolford. 1980. Changes in silage on exposure to air. p. 76-87. In: C. Thomas (ed.) Forage Conservation in the 80s. Occasional Symposium No. 11. British Grassland Society, Hurley, Berkshire, UK.

19- Kalzendorf, C. 1992. Über die Möglichkeiten einer kombinierten Anwendung von Milchsäurebakterien und Natriumformiat als Silierzusatz. Ph.D. diss. Humboldt University of Berlin, Germany.

20- Kung, L., and N. K. Ranjit. 2001. The effect of Lactobacillus buchneri and other additives on fermentation and aerobic stability of barley silage. Journal of Dairy Science, 84:1149– 1155. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74575-4

21- Lashkari, S. H., A. Taghizadeh, J. Seifdavati, and A. Z. M. Salem. 2014. Qualitative characteristics, microbial population and nutritive values of orange pulp ensiled whit nitrogen supplemementatian. Slovak Journal of Animal Science, 47: 90-99.

22- Mahala, A. G., and I. M. Khalifa. 2007. The effect of molasses on quality of sorghum (Sorghum bicolor) silage. Research Journal of Veterinary Sciences, 2:43-46.

23- May, J. J. 1993. Respiratory problems associated with work in silos. p. 283- 290. In: Proc. NRAES National Silage Production Conference. Syracuse, USA. 23-28 Feb. 1993. Syracuse, USA.

24- McAllister, T. A., L. B. Selinger, L. R. McMahon, H. D. Bae, T. J. Lysyk, and S. J. Oosting. 1995. Intake, digestibility and aerobic stability of barley silage inoculated with mixtures of Lactobacillus plantarum and Enterococcus faecium. Canadian Journal of Animal Science, 75(3):425–32. https://doi.org/10.4141/cjas95-062

25- McDonald, P., A. R. Henderson, and S. J. E. Heron. 1991. The Biochemistry of Silage. 2nd edition. Chalcombe Publications, Marlow, Bucks, UK.

26- McDougall, E. I. 1948. The composition and output of sheep’s saliva. Biochemistry Journal, 43(1):99–109

27- Mohammadzadeh, H., M. Khorvash, G. R. Ghorbani, and W. Z. Yang. 2012. Frosted corn silage with or without bacterial inoculants in dairy cattle ration. Livestock Science, 145(1-3):153-159. https://doi.org/10.1016/j.livsci.2012.01.011

28- O'Kiely, P., T. Turley, and P. A. M. Rogers. 1999. Exposure of calves to nitrogen dioxide in silage gas. Veterinary

Record, 144, 352-353. https://doi.org/10.1136/vr.144.13.352

29- Ørskov, E. and I. McDonald. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. Journal of Agricultural Science, 92(02): 499-503. https://doi.org/10.1017/S0021859600063048

30- Os, M., A. M. van Vuuren, and S. F. Spoelstra. 1997. Mechanisms of adaptation in sheep to overcome silage intake depression induced by biogenic amines. British Journal of Nutrition, 77: 399-415. https://doi.org/10.1079/BJN19970041

31- Randby, Å. T., I. Selmer-Olsen, L. and Baevre. 1999. Effect of ethanol in feed on milk flavor and chemical composition. Journal of Dairy Science, 82: 420-428. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75248-3

32- Ranjit, N. K., and L. Kung. 2000. The effect of *lactobacillus buchneri*, *lactobacillus plantarum* as a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Journal of Dairy Science, 83:526–533. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74912-5

33- Rowghani, E., M. J. Zamiri, M. Khorvash, and A. Abdollahipanah. 2008. The effects of Lactobacillus plantarum and Propionibacterium acidipropionici on corn silage fermentation, ruminal degradability and nutrient digestibility in sheep. Iranian Journal of Veterinary Research, 9(4):308–315.

34- Van Soest, P. J., J. B. Robertson, and B. A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. Journal of Dairy Science, 74: 3583–3597. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2

35- Volanis, M., P. Zoiopoulos, and K. Tzerakis. 2004. Effects of feeding ensiled sliced oranges to lactating dairy sheep. Small Ruminant Research, 53: 15-21. https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2003.07.011

36- Weinberg, Z. G., and R. E. Muck. 1996. New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. FEMS Microbiology Reviews, 19: 53-68 https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1996.tb00253.x.

37- Weiss, N. 1992. The Genera Pediococcus and Aerococcus. p. 1502-1507. In: Balows, A., H. G. Trüper, M. Dworkin, W. Harder, and K. H. Schleifer (ed.) The Prokaryotes. 2nd ed. Springer Verlag, New York, USA.

38- Whiter, A. G. and L. Kung. 2001. The effect of a dry or liquid application of lactobacillus plantarum mtd1 on the fermentation of alfalfa silage. Journal of Dairy Science, 84:2195–2202. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74666-8

39- Winters, A. L., J. E. Cockburn, M. S. Dhanoa, and R. J. Merry. 2000. Effects of lactic acid bacteria in inoculants on changes in amino acid composition during ensilage of sterile and nonsterile ryegrass. Journal of Applied Microbiology, 89: 442-451. https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01133.x

40- Woolford, M. K. 1975. Microbiological screening of the straight chain fatty acids (C1-C12) as potential silage additives. Journal of the Science of Food and Agriculture, 26: 219- 228. https://doi.org/10.1002/jsfa.2740260213

41- Yang, W. Z., C. Benchaar, B. N. Ametaj, and K. A. Beauchemin. 2010. Dose response to eugenol supplementation in growing beef cattle: Ruminal fermentation and intestinal digestion. Animal Feed Science and Technology, 158(1-2):57–64. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2010.03.019

42- Zahiroddini, H., J. Baah, W. Absalom, and T. A. McAllister. 2004. Effect of an inoculant and hydrolytic enzymes on fermentation and nutritive value of whole crop barley silage. Animal Feed Science and Technology, 117: 317-330. https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2004.08.013

43- Zehra Sariçiçek, B., and U. KIlic. 2009. The effects of different additives on silage gas production, fermantation kinetics and silage quality. Journal of Applied Sciences, 62: 11-18.